

赵琳, 林森, 赵琬玥, 等. 昆明地区引种荷花遗传多样性分析[J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(5): 116-125.

DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.05.015

昆明地区引种荷花遗传多样性分析

赵琳, 林森, 赵琬玥, 胡慧贞, 陈龙清

西南林业大学园林园艺学院/国家林业和草原局西南风景园林工程技术研究中心/
云南省功能性花卉资源及产业化技术工程研究中心, 昆明 650224

摘要 采用 InDel、EST-SSR 和 SSR 组合分子标记技术研究 94 份引种至昆明地区的荷花种质的遗传多样性, 结果显示: 筛选出的 60 对引物共扩增出 204 条条带, 检测到等位基因 233 个。3 种标记平均 Shannon 指数 ≥ 0.85 , 基因多样性指数 ≥ 0.52 , 多样性检出率较高。通过 Mantel 检测表明组合标记与各个独立标记的相关性 r 值均高于 0.789 4。采用组合标记进行聚类分析和群体结构分析均将 94 份种质资源划分为 5 个类群, 与传统分类及种源地分类存在一定关联。美洲莲与亚洲莲的遗传多样性存在明显差异, 遗传组分分析结果表明不同品种的中美杂交莲也存在差异, 分布于美洲莲或亚洲莲中。综上, 引种至昆明地区的 94 份荷花资源遗传多样性丰富, 组合标记在荷花种质资源的多样性检出率较高, 可为后续优良品种选育提供种质资源和技术支撑。

关键词 荷花; 遗传多样性; 分子标记; 种质资源; 昆明地区

中图分类号 S 682.32 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2021)05-0116-10

荷花 (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) 为莲科 (Nelumbonaceae) 莲属 (*Nelumbo*) 的多年水生草本植物, 是中国十大传统名花中唯一的水生花卉, 也是重要的切花植物^[1], 能有效吸收水体中的氮和磷, 净化水质^[2]。荷花已有 2 500 多年的栽培历史, 正式文献记载的名称全球已达 2 080 个^[3], 根据用途划分为花莲、籽莲及藕莲, 是集观赏、食用和药用价值于一身的重要的经济植物。

物种适生性及遗传多样性研究有助于探究物种对环境变化的响应, 采取人为手段帮助物种适应环境变化, 对于保护和利用遗传资源以及改良植物性状具有重要意义^[4]。荷花为异花授粉植物, 高度杂合, 遗传变异多样, 可供选择的亲本数量庞大, 通过分子标记技术手段能高效且精确地反映个体分子水平上的遗传差异优势, 目前常用的分子标记有 InDel、SSR、SRAP、Scot 等。其中 InDel 和 SSR 作为共显性标记广泛分布于基因组中, 数量众多、突变率高、杂合程度高、多态性含量较高, 在植物遗传多样性分析中应用广泛。Indel 标记是不同个体基因组

同一位点序列核苷酸片段的插入和缺失, 其检出效率较高^[5]。SSR 标记为简单重复序列, 按其来源可分为基因组 SSR 和 EST-SSR, 广布于整个基因组中, 在荷花的进化及多样性分析中得到广泛应用^[6]。此外, SSR 标记及 SNP 标记在鉴别品种中具有较高的灵敏度, 被国际植物品种权保护联盟 (International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV) 确定为构建植物品种 DNA 数据库的首选标记^[7]。

2013 年中国古代莲全基因组测序完成^[8]; 2018 年“Chinese Tai-Zi”染色体水平上的基因组组装完成^[9]; 这 2 个基因组测序的完成为荷花功能组学研究和新基因的挖掘提供了丰富的遗传信息, 为解析不同生物学性状提供了基础。Hu 等^[10]对 58 个荷花种质资源进行遗传多样性分析, 藕莲和籽莲分别聚为不同类群, 花莲在 2 个类群中均有分布。Yang 等^[11]利用 36 对 SSR 标记对来自不同地区的 11 个居群的 83 份荷花资源进行遗传多样性和群体结构分析, 发现泰国莲与中国莲居群之间的亲缘关系比

收稿日期: 2021-01-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31860231); 云南省千人计划产业人才专项 (09901/201904)

赵琳, E-mail: 1277206344@qq.com

通信作者: 陈龙清, E-mail: clqhzau@126.com

美洲黄莲近。Yang等^[12]结合分子标记对210份荷花种质资源进行连续2a的表型观测,对荷花重要观赏性状遗传定位进行了研究。AN等^[13]对18个省的94份藕莲进行了遗传多样性分析,发现西南地区和华东地区的藕莲品种具有更高的遗传多样性。Zheng等^[14]通过EST-SSR标记构建包括荷花在内的3类水生植物指纹图谱,为快速鉴定后代种子是否纯合提供了便利。

云南地区高原湖泊众多,地理和气候环境多样,植物多样性丰富。普者黑、鹤庆等地素有栽培荷花的传统,近期有研究指出,云南热带地区可能是野生荷花及重瓣型荷花的原产地^[15]。云南乡土荷花品种‘普者黑红荷’‘普者黑白荷’‘小洒锦’‘宜良千瓣’等皆具有较高的食用价值及观赏价值^[16],但目前云南地区栽种的荷花多为外地引进品种,品种混杂,缺乏系统研究。为明确昆明地区引种栽培的荷花种质资源的遗传背景,更好地发挥该地区的生态环境优势,本研究利用InDel、EST-SSR和SSR标记对94份在昆明地区收集的引种荷花种质进行遗传多样性分析,充分了解引种栽培荷花遗传多样性、明确遗传背景,以期为云南地区推广荷花栽培提供参考依据并为荷花育种提供优良亲本。

1 材料与方法

1.1 试验材料

94份荷花种质原产于重庆大足、广西贵港、湖北武汉及四川遂宁等地,其中52份引种后种植于西南林业大学荷花种质资源圃,其余试验样品在云南昆明、曲靖、西双版纳地区采集所得,其中有30份为实生选育品种。品种信息详见表1。

1.2 材料种植及管理

2018年4月上旬,选取顶芽保存完好、藕身具膨大的藕节2节及以上的种藕,种植于口径65cm×高70cm的黑色塑料缸。每缸种植2支,每一品种种植5缸,采用“藏头露尾”的方式栽植,根据植株生长状况适时进行科学管理。

1.3 DNA提取及标记扩增

选取无病虫害刚出水面的卷叶,采用天根多糖多酚专用植物基因组DNA提取试剂盒(DP305-02)提取DNA;经琼脂糖凝胶电泳检测质量,Nanodrop

2000测各样本质量浓度并记录,将各样本稀释至50ng/ μ L,于-20℃保存备用。

50对InDel引物为课题组自主开发,50对EST-SSR和50对SSR引物来源于已发表的文献^[6,11,17-18],均由上海生工生物股份有限公司合成。随机选择5份供试材料DNA进行扩增,每个标记筛选出各20对多态性好、条带清晰的引物用于94份种质荷花的遗传多样性研究。采用6%的聚丙烯酰胺凝胶对PCR扩增产物进行电泳、银染、显影、人工读带。

1.4 数据处理

利用Excel对分子标记扩增条带进行统计整理。利用POPGEN 32及PIC_CALC进行遗传多样性指标分析,利用Excel 2007及NTSYS-pc 2.10e进行遗传相似系数分析及Mantel检测。使用MEGA-X采用UPGMA法进行聚类,iTOL在线工具进行美化。利用Structure 2.3.4进行群体结构分析,使用Structure Harvest在线工具计算最佳K值,确定群体数量。

2 结果与分析

2.1 InDel、EST-SSR、SSR遗传多样性分析

分别选取InDel、SSR、EST-SSR各50对引物进行扩增,筛选出InDel、SSR和EST-SSR各20对能扩增出丰富、稳定、清晰条带的标记对引种的94份荷花种质进行分析,发现筛选出的标记能较好地揭示94份荷花材料多样性及遗传差异(表2)。3种分子标记共扩增204条条带,总共检测到233个等位基因。每种标记都表现出较高多样性水平,平均Shannon指数 ≥ 0.85 ,基因多样性指数 ≥ 0.52 ,多态性信息含量 ≥ 0.44 ,其中SSR标记在94份荷花种质中表现出更高的多态性水平。

2.2 InDel、EST-SSR和SSR标记相关性检测

对3种标记进行Mantel检测,相关性分析结果(表3)显示,InDel、EST-SSR和SSR三者间相关性除EST-SSR和SSR ≥ 0.5290 ,其他均小于0.5,说明3种标记间的相关性较差,但3种标记组合与InDel、EST-SSR和SSR遗传相似系数矩阵相关性系数均大于0.7894,呈高度正相关,表明可以采用3种标记组合进行遗传多样性分析。

表 1 供试种质及其来源
Table 1 Ninety-four Lotus accessions used in this study and their origins

序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source	序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source	序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source
1	铁岭 Tieling	中国莲 Chinese lotus	辽宁铁岭 Tieling, Liaoning	12	玉麟 Yu Li	中美杂交莲 Sino-American hybrids	湖北武汉 Wuhan, Hubei	23	太空红旗 4 号 Taikong Hongqi Sihao	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
2	太空莲 Taikong Lian	中国莲 Chinese lotus	江西广昌 Guangchang, Jiangxi	13	粉玉莲 Fen Yu Lian	中国莲 Chinese lotus	河北白洋淀 Baiyangdian, Hebei	24	荆女 Jing Nu	中国莲 Chinese lotus	湖北荆州 Jingzhou, Hubei
3	希陶飞雪 Xitao Feixue	中美杂交莲 Sino-American hybrids	浙江杭州 Hangzhou, Zhejiang	14	宝石花 Baoshi Hua	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	25	红花建莲 Honghua Jianlian	中国莲 Chinese lotus	福建建宁 Jianning, Fujian
4	国庆红 Guoqing Hong	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	15	金陵女神 Jingling Nushen	中国莲 Chinese lotus	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	26	DJ-17 DJ-17	*	湖北武汉 Wuhan, Hubei
5	凤凰振羽 Fenghuang Zhen Yu	中美杂交莲 Sino-American hybrids	湖北武汉 Wuhan, Hubei	16	巨无霸 Ju Wu Ba	中国莲 Chinese lotus	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	27	太空骄阳 Taikong Jiayouyang	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
6	美洲莲 Meizhou Lian	美洲莲 American lotus	美洲 American	17	普贤 Pu Xian	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	28	红台莲 Hongtai Lian	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei
7	十月红 Shiyue Hong	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	18	新披针红 Xin Pizhen Hong	中国莲 Chinese lotus	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	29	大足红莲 Dazu Honglian	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
8	粉红凌霄 Fenhong Lingxiao	中国莲 Chinese lotus	泰国曼谷 Bangkok, Thailand	19	建造 17 号 Jian Xuan Shiqihao	中国莲 Chinese lotus	福建建宁 Jianning, Fujian	30	雅育粉 8 号 Ya Yu Fen Bahao	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
9	千堆锦 Qian Dui Jin	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	20	建造 31 号 Jian Xuan Sanshiyihao	中国莲 Chinese lotus	福建建宁 Jianning, Fujian	31	烟笼夜月 Yanlongyeyue	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
10	大洒锦 Dasajin	中国莲 Chinese lotus	浙江杭州 Hangzhou, Zhejiang	21	建造 35 号 Jian Xuan Sanshiwuhao	中国莲 Chinese lotus	福建建宁 Jianning, Fujian	32	媚态观音 Meitai Guanyin	中美杂交莲 Sino-American hybrids	重庆 Chongqing
11	SN SN	中国莲 Chinese lotus	日本 Japan	22	雅育红 11 号 Ya Yu Hong Shiyihao	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	33	神女姿 2 号 Shen NuZi Erhao	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing

续表 1 Continued Table 1

序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source	序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source	序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source
34	含羞 Han Xiu	*	*	45	千瓣莲 Qianban Lian	中国莲 Chinese lotus	湖北当阳 Dangyang, Hubei	56	陶然一笑 Tao Ran Yi Xiao	中美杂交莲 Sino-American hybrids	江苏盐城 Yancheng Jiangsu
35	金凤凰 Jin Fenghuang	中美杂交莲 Sino-American hybrids	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	46	秋星 Qiu Xing	中国莲 Chinese lotus	广西贵港 Guigang, Guangxi	57	红丝巾 Hong Sijin	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei
36	神女姿 Shen Nu Zi	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	47	龙飞 Long Fei	中美杂交莲 Sino-American hybrids	湖北武汉 Wuhan, Hubei	58	太白如来 Taibairulai	*	*
37	红桃子 Hong Taozi	*	*	48	大日如来 Da Ri Rulai	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	59	如意观音 Ruyi Guanyin	中美杂交莲 Sino-American hybrids	重庆 Chongqing
38	锦红袍 Jin Hongpao	中美杂交莲 Sino-American hybrids	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	49	锦霞 Jin Xia	中美杂交莲 Sino-American hybrids	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	60	佳丽 Jiali	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
39	秋日红花 Qiu Ri Honghua	中国莲 Chinese lotus	广西贵港 Guigang, Guangxi	50	笛女 Di Nu	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	61	歌乐灵音 Ge Yue Ling Yin	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
40	秋阳 Qiu Yang	中国莲 Chinese lotus	广西贵港 Guigang, Guangxi	51	HX-2 HX-2	*	湖北武汉 Wuhan, Hubei	62	小瓶子 Xiao Zhizi	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei
41	秋艳 Qiu Yan	中国莲 Chinese lotus	广西贵港 Guigang, Guangxi	52	HJ-17 HJ-17	*	湖北武汉 Wuhan, Hubei	63	七仙女 Qi Xiannü	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei
42	太空红旗 Taikong Hongqi	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	53	中山红台 Zhongshan Hongtai	中国莲 Chinese lotus	广东中山 Zhongshan, Guangdong	64	寿星桃 Shouxing Tao	中国莲 Chinese lotus	浙江杭州 Hangzhou, Zhejiang
43	牧童 Mutong	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	54	朱衣使者 Zhu Yi Shizhe	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	65	水中月 Shui Zhong Yue	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
44	友谊牡丹莲 Youyi Mudan Lian	中美杂交莲 Sino-American hybrids	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	55	艳阳天 Yanyang Tian	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	66	藕×美洲莲 Ou×MeiZhou Lian	*	湖北武汉 Wuhan, Hubei

续表 1 Continued Table 1

序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source	序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source	序号 Number	品种名 Germplasm	种系 Germline	种源地 Source
67	小蟹爪 Xiao Xiezhuo	中美杂交莲 Sino-American hybrids	湖北武汉 Wuhan, Hubei	77	红霞-1 Hongxia-1	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	87	优良株系 4-1 Youliang Zhuxi 4-1	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
68	鼓浪小红-1 Gulang Xiaohong-1	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	78	鼓浪小红-2 Gulang Xiaohong-2	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	88	优良株系 3-4 Youliang Zhuxi 3-4	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
69	秋玉 Qiu Yu	中国莲 Chinese lotus	广西贵港 Guigang, Guangxi	79	一半春-2 Yi Ban Chun-2	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	89	优良株系 2-6 Youliang Zhuxi 2-6	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
70	太空红旗 27 号 Taikong Hongqi Ershiqihao	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	80	凤戏牡丹 Feng Xi Mudan	中国莲 Chinese lotus	河北白洋淀 Baiyangdian, Hebei	90	优良株系 2-9 Youliang Zhuxi 2-9	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
71	剑舞 Jian Wu	中美杂交莲 Sino-American hybrids	北京 Beijing	81	东湖春晓 Donghu Chunxiao	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	91	优良株系 2-3 Youliang Zhuxi 2-3	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
72	蜀女 Shu Nu	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing	82	童羞面 Tong Xiu Mian	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	92	醉归 Zuigui	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei
73	一半春-1 Yi Ban Chun-1	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	83	秣陵秋色 Mu Ling Qiu Se	中美杂交莲 Sino-American hybrids	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	93	落柳 Luo Liu	*	*
74	少瓣红 Shao Ban Hong	中国莲 Chinese lotus	山东沂蒙 Yimeng, Shandong	84	独立 Duli	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	94	金碧留香 Jinbi Liu Xiang	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing
75	红霞-2 Hongxia-2	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	85	落霞 Luo Xia	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei				
76	云腾霞蔚 Yun Teng Xia Wei	中国莲 Chinese lotus	湖北武汉 Wuhan, Hubei	86	优良株系 1-8 Youliang Zhuxi 1-8	中国莲 Chinese lotus	重庆 Chongqing				

注:1)带“*”表示该材料信息不详;2)“优良株系 X-X”为自主培育的新品种;“秋日红花”、“秋星”、“秋艳”、“秋阳”、“秋池”、“秋玉”为秋荷品种,为中国莲与泰国莲杂交的后代。Note:1) Materials with ‘*’ mean unknown information; 2) ‘Youliang Zhuxi’ is new variety cultivated independently; ‘Qiu Xing’, ‘Qiu Yan’, ‘Qiu Yang’, ‘Qiu Yu’, ‘Qiu Yu’, ‘Qiu Yu’, ‘Qiu Yu’ are autumn lotus varieties, the offsprings of crosses between Chinese lotus and Thai lotus.

表 2 InDel、EST-SSR、SSR 引物多态性分析

Table 2 The polymorphism analysis of InDel, EST-SSR and SSR

标记类型 Markers type	多态性条带数 Total polymorphical bands	Na	Ne	I	H'	PIC
InDel	55	3.30	2.25	0.85	0.52	0.44
EST-SSR	70	3.95	2.41	0.98	0.57	0.49
SSR	79	4.40	2.67	1.06	0.59	0.52

注 Note: Na; 观测等位基因数 Number of alleles observed; Ne; 有效等位基因数 Effective allele number; I; Shannon 信息指数 Shannons information index; H'; 基因多样性指数 Genetic diversity index; PIC; 多态性信息含量 Polymorphism information content.

表 3 InDel、EST-SSR、SSR 标记遗传相似系数相关系数

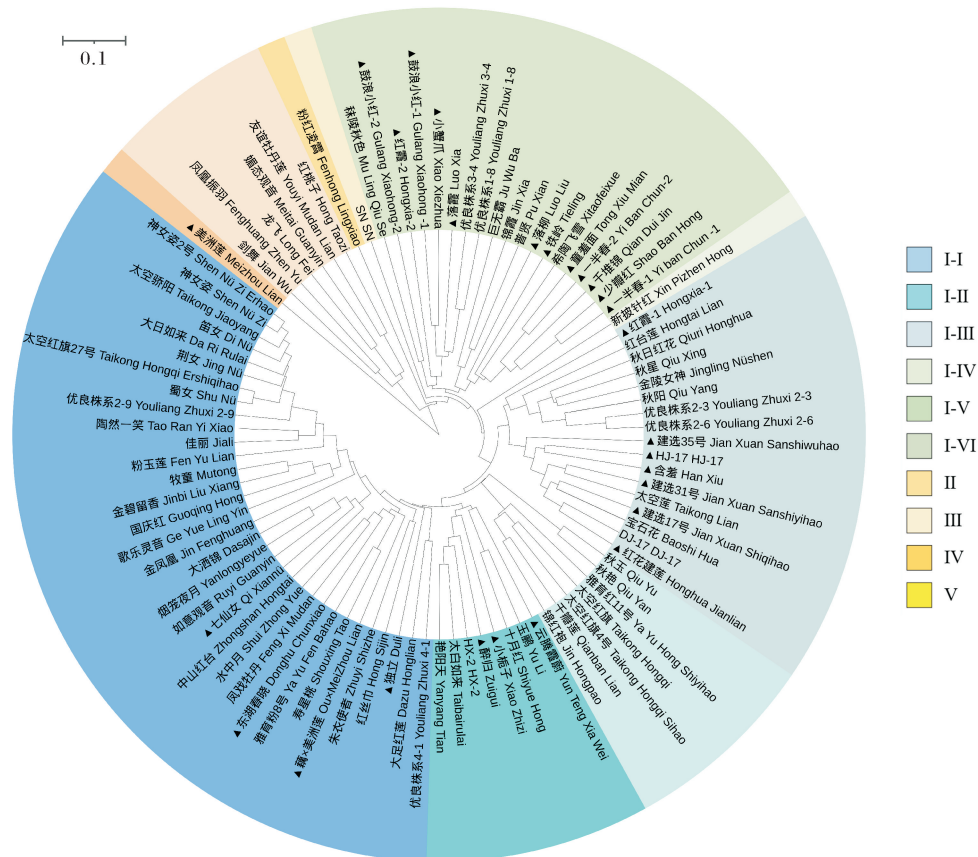
Table 3 Correlation coefficients of InDel, EST-SSR, SSR genetic similarity coefficients

标记类型 Markers type	InDel	EST-SSR	SSR	InDel, EST-SSR, SSR
InDel	1			
EST-SSR	0.403 2	1		
SSR	0.413 4	0.529 0	1	
InDel, EST-SSR, SSR	0.789 4	0.793 0	0.796 0	1

2.3 基于 InDel、EST-SSR 和 SSR 的聚类分析

聚类分析将 94 份种质资源划分为 5 大类 (图 1)。结合种源地信息、形态特征和聚类结果综合

分析, 结果表明: 可以将类群 I 细分为 6 个亚群。类群 I-I 有 33 份材料, 种源地为重庆及武汉的材料居多, 除‘金凤凰’、‘如意观音’为中美杂交莲, 31 份为中国莲, 4 份为实生苗选育品种, 均为单瓣品种, 其余 29 份荷花材料为重瓣荷花; 除‘金凤凰’为黄色, ‘水中月’为白色以及‘大洒锦’为洒锦色系以外, 其余均为紫堇色或淡紫堇色系。类群 I-II 有 8 份材料, 仅‘玉鹂’为中美杂交莲, 其余均为湖北武汉地区的中国莲, 除‘艳阳天’外均表现为中小株型重瓣荷花, 类群 I-III 有 7 份材料, 仅‘锦红袍’为中美杂交莲, 其余均为中国莲品种, 2 个为秋荷品种, 3



带▲为实生苗栽培品种 The cultivars with ▲ are indicated seeding cultivars.

图 1 94 份荷花种质资源聚类分析

Fig.1 Cluster analysis of 94 lotus

个品种为太空育种品种,‘千瓣莲’被划分在此类群内,花色多为紫堇色。类群 I-IV 有 17 份材料,均为中国莲品种,无明显的种源地划分;花色均为紫堇色或淡紫堇色系,大株型品种较多,3 份秋荷品种聚类到一起,单瓣大株型籽莲均在此类群内,遗传距离较近。I-V 仅‘新披针红’一份材料,引自江苏南京,为中小型重瓣荷花。I-VI 类群有 19 份材料,有 4 份为美洲莲品种,以湖北武汉地区引种品种较多,多为当年莲子播种的中小株型荷花。

类群 II,‘SN’独聚为一支,该品种来自日本,与其他荷花品种地理距离较远。

类群 III,‘粉红凌霄’独聚为一支,为热带莲品种。

类群 IV 有 6 个材料,除‘红桃子’无法确认其种源外,其中 5 个均为中美杂交莲,花色除‘媚态观音’及‘红桃子’为复色品种外,其余以黄色和白色为主。

类群 V,‘美洲黄莲’独聚为一支。

2.4 群体结构分析

为了明确不同种质间的群体结构关系及遗传背景差异,对 94 份材料的群体遗传结构进行分析,从图 2 可以看出,94 份荷花材料在 $K=5$ 时, ΔK 出现峰值,说明在此群体中有 5 种主要的基因组结构成分。

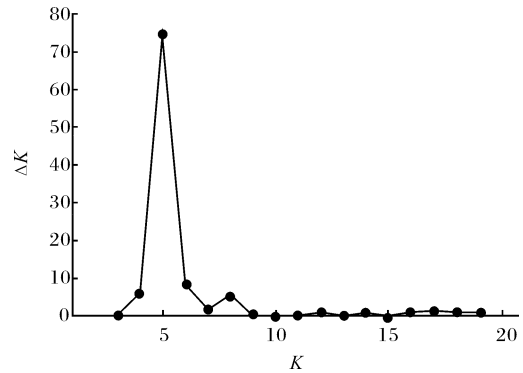
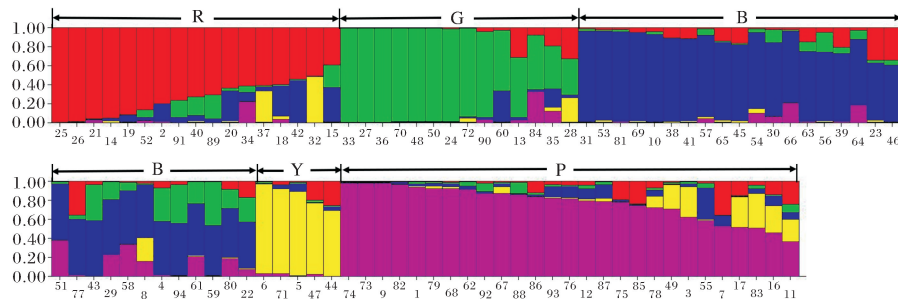


图 2 ΔK 随 K 变化的折线图

Fig.2 ΔK values changing with K value

群体结构分析的分组结果(图 3)显示,根据颜色的不同可将 94 份荷花的主要遗传组分划分为 5 种;根据遗传组分的相似性可以将 94 份种质聚类成 5 个亚群,各亚群所包含的种质材料与聚类分析的结果有相似之处。

遗传组分的分组结果显示群体 R 与聚类分析中的 I-IV 种质资源较一致,除‘媚态观音’外,其余均为中国莲,种系不明的‘红桃子’可能为中美杂交莲;大部分为子莲及实生苗选育品种。群体 G 中与聚类分析中的类群 I-I 中的大部分种质一致,大都为中国莲品种,其中仅 1 份为黄色系中美杂交莲



图中数字为种质材料编号。The accession numbers are indicated in the figure.

图 3 群体结构 Q 图

Fig.3 Q-plot of the population structure

‘金凤凰’,但其遗传组分与美洲黄莲相似度较低。群体 B 中除‘水中月’为白色外,均为堇紫色品种。‘锦红袍’‘陶然一笑’‘如意观音’与美洲莲遗传组分的相似度很低,所以聚类结果中类群 I-I 及类群 I-III 均为中国莲遗传组分占比高的种质资源。群体 Y 主要分布在类群 IV、V 中,均为美洲莲及中美杂交莲。群体 P 与类群 I-V 中的种质较一致,以武汉地区中国莲为主,大部分为中小型荷花品种实生苗;其中‘玉鹂’与美洲莲相似的组分很低,所以与

中国莲聚类在同一个组中;来自日本的‘SN’也在此群体内,同一品种的不同实生苗遗传组分也有所差异,且其遗传组分组成较复杂。

3 讨论

3.1 组合分子标记对遗传多样性的检出率高

本研究中的 94 份荷花种质来源广泛,遗传背景复杂,观赏性状及农艺性状丰富。不同的分子标记其来源不同,所揭示的基因位点的遗传信息有所差

异,可以为遗传多样性研究及种质资源分类提供更丰富的遗传信息,本研究通过 Mantel 检测发现组合标记与单个分子标记的 r 值均大于 0.75,采用组合分子标记发现供试群体具有丰富的遗传多样性。Hu 等^[10]利用 AFLP 和 SSR 标记进行遗传多样性分析,发现 AFLP、SSR 联合分析的遗传相似系数分别与 AFLP 和 SSR 标记高度匹配,使用联合标记可以更好地进行聚类。Yang 等^[19]使用 SSR、SRAP 对 43 份荷花材料进行基因分型,SSR-SRAP 联合分析分别与 SSR、SRAP 高度相关。本研究的群体结构分析显示,同一品种的实生苗在遗传组分上存在一定差异,说明联合标记检出率更高,在一定程度上能揭示较多的遗传信息。

3.2 形态和分子标记相结合更利于对引种荷花的评价

结合 3 种分子标记的结果进行聚类分析,发现荷花种质在分子水平上与形态水平上对资源的分类并不完全一致,但具有一定的关联性,袁王俊等^[20]在菊花的遗传多样性分析中也发现,传统的分类方法不能完全反映菊花的亲缘关系,说明分子水平上揭示的遗传信息差异不一定能在形态上表现出来;在关联分析的研究中发现,分子标记位点间的相互连锁会导致同一个分子标记位点同时影响多个相互关联的表型性状^[21]。传统的形态学特征与荷花的经济价值直接相关,将形态学标记与分子标记结合分析对育种实践具有重要的指导意义。聚类的群体与种质资源的种源地没有明显的关联,这与尹静静等^[22]和李青竹等^[23]对种藕的研究结果类似。Yeshitila 等^[24]利用 9 对 SSR 标记对来自不同自然地理分布的 15 个群体共计 216 个热带莲样本进行遗传多样性分析,发现遗传距离与地理距离存在正相关关系,但是 Islam 等^[25]利用 12 对 SSR 引物对 326 个美洲莲的遗传多样性分析,发现遗传距离与地理距离无显著相关性。在本研究中,‘SN’‘粉红凌霄’‘美洲黄莲’等种源地与中国莲种质资源明显分隔的品种,无论是在聚类还是群体结构分析中与中国莲品种均有差异,而群体内来自中国各地区的种质资源无明显划分,可能是由于引种的品种多为近期人工杂交选育,各地种质资源交流频繁导致基因交流频繁,基因组较为复杂。籽莲品种均聚类在同一个群体或类群内,大部分的研究表明藕莲、籽莲在分

子水平上有较大的差异,它们复杂的遗传关系可能是由于长期人工选择和无性繁殖逐渐形成的遗传差异^[19,26]。本研究中花莲观赏性状丰富,且部分品种与籽莲遗传分化明显,可选择优良品种与结实较多的籽莲进行杂交,选育新品种。

在聚类及群体结构分析中发现,部分有记载种系来源的荷花品种与聚类结果有差异,可能是由于标记数量较少导致,同时聚类及遗传结构分析也能帮助重新注释品种的背景,为后续的研究提供科学的指导。

聚类结果以及群体结构分析皆显示,美洲莲被独聚为一支,与亚洲莲遗传距离较远,与前人研究结果一致^[15]。中美杂交莲在聚类的过程中没有完全聚在一起,这可能是由于不同品种的中美杂交莲遗传组分构成不同,通过群体结构分析也可看出,部分中美杂交莲遗传组分与美洲莲相似度极低,与中国莲相似度更高。秋荷品种也并未完全聚类到一起,除秋玉外,其余品种遗传组分类似,与种源地为泰国的‘粉红凌霄’遗传组分部分相似。

综上,InDel、EST-SSR 和 SSR 3 种分子标记组合对荷花多样性研究有较高的检出率,94 份荷花品种遗传多样性高,亚洲莲及美洲莲有明显遗传分化,不同品种的中美杂交莲或秋荷在遗传组分存在差异,研究结果可为后续的优良品种选育及选配适合的杂交组合提供种质资源及技术支撑。

参考文献 References

- [1] 张行言.中国荷花品种图志[M].北京:中国林业出版社,2005. ZHANG X Y. Lotus flower cultivars in China[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2005(in Chinese).
- [2] THONGTHA S, TEAMKAO P, BOONAPATCHAROEN N, et al. Phosphorus removal from domestic wastewater by *Nelumbo nucifera* Gaertn. and *Cyperus alternifolius* L.[J]. J Environ Manage, 2014, 37(1): 54-60.
- [3] 刘凤栾,秦密,刘青青,等.利用 EST-SSR 检测阔短和狭长被片型美洲莲的遗传变异[J].西北农业学报,2020,29(2): 306-314. LIU F L, QIN M, LIU Q Q, et al. Detecting the genetic variation of American lotus with wide-short and long-narrow quilt by using EST-SSR[J]. Acta agriculturae boreali-occidentalis sinica, 2020, 29(2): 306-314(in Chinese with English abstract).
- [4] ELLEGREN H, GALTIER N. Determinants of genetic diversity[J]. Nat Rev Genet, 2016, 17(7): 422-433.
- [5] MILLS R E, LUTTIG C T, LARKINS C E, et al. An initial

- map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome[J]. *Genome Res.*, 2006, 16(9):1182-1190.
- [6] PAN L, XIA Q, QUAN Z, et al. Development of novel EST-SSRs from sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) and their utilization for the genetic diversity analysis of *N. nucifera* [J]. *J Hered.*, 2010, 101(1):71-82.
- [7] UPOV. Guidelines for DNA-profiling; molecular markers selection and database construction[R]. Geneva:Office of the Union, 2010:1-13.
- [8] MING R, VANBUREN R, LIU Y, et al. Genome of the long-living sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) [J/OL]. *Genome Biol.*, 2013, 14(5):R41 [2021-01-08]. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-5-r41>.
- [9] GUI S, PENG J, WANG X, et al. Improving *Nelumbo nucifera* genome assemblies using high-resolution genetic maps and BioNano genome mapping reveals ancient chromosome rearrangements[J]. *Plant J.*, 2018, 94(4):721-734.
- [10] HU J, PAN L, LIU H, et al. Comparative analysis of genetic diversity in sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) using AFLP and SSR markers[J]. *Mol Biol Rep.*, 2012, 39(4):3637-3647.
- [11] YANG M, LIU F, HAN Y, et al. Genetic diversity and structure in populations of *Nelumbo* from America, Thailand and China: implications for conservation and breeding[J]. *Aquatic botany*, 2013, 107:1-7.
- [12] YANG M, ZHU L P, XU L M, et al. Population structure and association mapping of flower-related traits in lotus (*Nelumbo adans*) accessions[J]. *Scientia horticulturae*, 2014, 175:214-222.
- [13] AN N, GUO H B, KE W D. Genetic variation in rhizome lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn. ssp. *nucifera*) germplasms from China assessed by RAPD markers[J]. *Agricultural sciences in China*, 2009, 8(1):31-39.
- [14] ZHENG X, CHENG T, YANG L, et al. Genetic diversity and DNA fingerprints of three important aquatic vegetables by EST-SSR markers[J/OL]. *Sci Rep.*, 2019, 9(1):14074 [2021-01-08]. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50569-3>.
- [15] LIU Z, ZHU H, ZHOU J, et al. Resequencing of 296 cultivated and wild lotus accessions unravels its evolution and breeding history[J]. *Plant J.*, 2020, 104(6):1673-1684.
- [16] 裴雅萍, 刘波, 冯子云, 等. 云南荷花品种资源研究[J]. *西南林学院学报*, 2006(4):43-48. NIE Y P, LIU B, FENG Z Y, et al. Research on Yunnan lotus variety resources [J]. *Journal of Southwest Forestry College*, 2006(4):43-48 (in Chinese with English abstract).
- [17] ZHANG W W, TIAN D K, HUANG X, et al. Characterization of flower-bud transcriptome and development of genic SSR markers in Asian lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) [J/OL]. *PLoS One.*, 2014, 9(11):e112223 [2021-01-08]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112223>.
- [18] HU J, GUI S, ZHU Z, et al. Genome-wide identification of SSR and SNP markers based on whole-genome re-sequencing of a Thailand wild sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) [J/OL]. *PLoS One.*, 2015, 10(11):e0143765 [2021-01-08]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143765>.
- [19] YANG M, HAN Y, XU L, et al. Comparative analysis of genetic diversity of lotus (*Nelumbo*) using SSR and SRAP markers [J]. *Scientia horticulturae*, 2012, 142:185-195.
- [20] 袁王俊, 叶松, 董美芳, 等. 菊花品种表型性状与 SSR 和 SCoT 分子标记的关联分析[J]. *园艺学报*, 2017, 44(2):364-372. YUAN W J, YE S, DONG M F, et al. Association analysis of phenotypic traits with SSR and SCoT molecular markers in *Chrysanthemum morifolium* [J]. *Acta horticulturae sinica*, 2017, 44(2):364-372 (in Chinese with English abstract).
- [21] ZHAO M, YANG J X, MAO T Y, et al. Detection of highly differentiated genomic regions between lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) with contrasting plant architecture and their functional relevance to plant architecture [J/OL]. *Front Plant Sci.*, 2018, 9:1219 [2021-01-08]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01219>.
- [22] 尹静静, 李效尊, 阴筱, 等. 山东莲藕 (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) 种质资源的 RAPD 鉴定和遗传多样性分析[J]. *分子植物育种*, 2015, 13(6):1323-1328. YIN J J, LI X Z, YIN X, et al. RAPD identification and genetic diversity analysis of Shandong lotus root (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) germplasm resources [J]. *Molecular breeding*, 2015, 13(6):1323-1328 (in Chinese with English abstract).
- [23] 李青竹, 许俊旭, 王桢, 等. 利用 SSR 荧光标记构建七十二个莲属荷花品种指纹图谱[J]. *北方园艺*, 2020(4):65-73. LI Q Z, XU J X, WANG Z, et al. Construction of the fingerprints of 72 lotus cultivars using SSR fluorescent markers [J]. *Northern horticulture*, 2020(4):65-73 (in Chinese with English abstract).
- [24] YESHITILA M, HUANG S X, NGAREGA B K, et al. The level of genetic diversity and differentiation of tropical lotus, *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Nelumbonaceae) from Australia, India, and Thailand [J]. *Bot Stud.*, 2020, 61(1):15 [2021-01-08]. <https://doi.org/10.1186/s40529-020-00293-3>.
- [25] ISLAM M R, LI Z Z, LIU H, et al. Genetic diversity, population structure, and historical gene flow of *Nelumbo lutea* in USA using microsatellite markers [J/OL]. *Aquatic botany*, 2020, 160 [2021-01-08]. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2019.103162>.
- [26] LI Y, ZHU F L, ZHENG X W, et al. Comparative population genomics reveals genetic divergence and selection in lotus, *Nelumbo nucifera* [J/OL]. *BMC genomics*, 2020, 21(1):146 [2021-01-08]. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6376-8>.

Genetic diversity of lotus introduced in Kunming

ZHAO Lin, LIN Sen, ZHAO Wanyue, HU Huizhen, CHEN Longqing

*Southwest Landscape Architecture Engineering Technology Research Center of
National Forestry and Grassland Administration/Yunnan Functional Flower
Resources and Industrialization Technology Engineering Research Center/
College of Landscape Architecture and Horticulture Sciences, Southwest Forestry University,
Kunming 650224, China*

Abstract The combined molecular markers including InDel, EST-SSR and SSR were used to analyse the genetic diversity of 94 lotus germplasms introduced in Kunming region. The results showed that a total of 204 bands were amplified by the 60 pairs of primers screened, and 233 alleles were detected. The average Shannon's index of the three markers was more than 0.8, the index of gene diversity was above 0.52, indicating that the detection rate of diversity is high. The result of Mantel test showed that the correlation r values between the combined markers and each independent marker were all higher than 0.789 4. Ninety-four germplasms were divided into 5 groups with cluster analysis and population structure analysis of combined markers, which was related to traditional classification and provenance classification. There were obvious differences in genetic diversity between American lotus and Asian lotus. According to genetic composition, Sino-American hybrid lotus is distributed in American lotus or Asian lotus. In summary, the 94 lotus resources introduced to Kunming are rich in genetic diversity, and the combined molecular markers have a high detection rate of diversity in lotus germplasm resources. It will provide germplasm resources and technical support for further selecting and breeding elite lotus varieties.

Keywords lotus; genetic diversity; molecular marker; germplasm resource; Kunming

(责任编辑:张志钰)